

**DIE BEEINFLUSSUNG VON HAUT-HETEROTRANSPLANTATEN  
DURCH SUBZELLULÄRE KERNFRAKTIONEN**

von

**Dieter Hitz**

aus

**Fürth**

1968







Aus der Chirurgischen Klinik  
der Universität Erlangen-Nürnberg  
Direktor: Prof. Dr. med. G. Hegemann

---

# **DIE BEEINFLUSSUNG VON HAUT-HETEROTRANSPLANTATEN DURCH SUBZELLULÄRE KERNFRAKTIONEN**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

**Dieter Hitz**

aus

**Fürth**

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät  
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan:

Prof.Dr.E.Wetterer

Referent:

Priv.-Doz.Oberarzt Dr.H.Bünke

Coreferent:

Prof.Dr.G.Hegemann

Tag der mündlichen Prüfung: 30. April 1968

## INHALTSVERZEICHNIS

\*\*\*\*\*

|                                                                                                                 |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| I. Allgemeiner Teil über Homo- und Hetero-<br>transplantationen                                                 | S. 1 - 6   |
| II. Material und Methoden                                                                                       | S. 7 - 13  |
| 1) Vorbehandlung des Hundes                                                                                     |            |
| 2) Herstellung des Milzhomogenats zur<br>Vorbehandlung der Mäuse                                                |            |
| 3) Vorbehandlung der Mäuse                                                                                      |            |
| 4) Die Transplantation                                                                                          |            |
| III. Ergebnisse                                                                                                 | S. 13 - 34 |
| 1) Ergebnisse der Vorbehandlung des Hundes                                                                      |            |
| 2) Ergebnisse der Transplantation von vor-<br>behandeltem Hund auf unbehandelte Mäuse                           |            |
| 3) Ergebnisse der Transplantation von vor-<br>behandeltem Hund auf vorbehandelte Mäuse                          |            |
| 4) Vergleich der Mittelwerte der Fraktionen<br>I - V und der Erst- und Zweitverpflanzung                        |            |
| 5) Vergleich der Mittelwerte der Kontrollver-<br>suche C 0 und F 0 mit den Mittelwerten der<br>Fraktionen I - V |            |
| 6) Histologie                                                                                                   |            |
| IV. Diskussion                                                                                                  | S. 35 - 42 |
| 1) Diskussion der Kontrollversuche C 0 und F 0                                                                  |            |
| 2) Begutachtung der Überlebenszeiten innerhalb<br>der Fraktionen                                                |            |
| 3) Diskussion der Transplantationstechnik                                                                       |            |
| 4) Diskussion zum Vergleich der Fraktionen                                                                      |            |
| 5) Diskussion der absoluten und signifikanten<br>Verlängerungen                                                 |            |
| V. Zusammenfassung                                                                                              | S. 43      |
| VI. Literaturverzeichnis                                                                                        |            |



## I. Allgemeiner Teil über Homo- und Heterotransplantationen

Die Transplantation fasziniert den Mediziner, da er hier eine Möglichkeit sieht, krankes Gewebe durch gesundes zu ersetzen. Vor allem für den Chirurgen eröffnet sich ein noch nicht übersehbares Betätigungsfeld in der Organverpflanzung. Dies ist auch der Grund, daß in den letzten 20 Jahren eine fieberhafte experimentelle Forschung zur Überwindung der Individualspezifität und zur Tolerierung von Fremdgewebe einsetzte.

MEDAWAR (1) erkennt tierexperimentell die Ursache der Abstoßung einer Organtransplantation als eine Antigen-Antikörper-Reaktion. Überträgt man Haut innerhalb einer Tierrasse, z.B. bei Ratten, von einem Stamm auf einen anderen genetisch nicht verwandten Stamm, so kann man die Abstoßung dieser homologen Transplantation verfolgen. Nach einer Zeit des Angehens des Transplantats zeigen sich Zeichen der Entzündung am 4. bis 5. Tag, die mit einer anwachsenden Leukozyteninfiltration fortschreiten und mit einer völligen Nekrose des gesamten Transplantates am 8. bis 9. Tag enden (RUSSEL und MONACO, 2). Ein Zweittransplantat des gleichen Spenders und Empfängers wird schneller und heftiger abgestoßen. Dieses Verhalten beweist die Analogie zur Immunologie.

1. Latenzzeit bis zum Auftreten der Reaktion nach Erstkontakt mit dem Antigen, dem Spendergewebe.
2. Eine beschleunigte Reaktion dieses sensibilisierten Organismus bei der Zweitverpflanzung.
3. Eine Spezifität der Reaktion gegenüber dem Spenderindividuum.
4. Die Ausbreitung der Überempfindlichkeit im gesamten Organismus des Empfängers (SCHEIFFARTH, 3).

Als Grundlage des Immunmechanismus wird die Ausbildung einer Lymphdrainage und die Blutgefäßkommunikation zwischen Transplantat und Transplantatbett vorausgesetzt. Ein homologes Hauttransplantat ruft bald die Gegenwart von großen mononuklearen Zellen im regionalen Lymphknoten hervor. Hier beginnt die Antikörperproduktion. Sobald die transplantierte Haut mit dem Blut des Wirtes versorgt wird, beginnt die Nekrose (RUSSEL, MONACO, 2). Auf diesem Weg gelangen zellulär fixierte Antikörper des Empfängers an das Transplantat (SCHEIFFARTH, 3). ANDRE und SCHWATZ (4) zeigen, daß nach 4 Tagen im regionären Lymphknoten eine Follikelproliferation eintritt. Der kontralaterale Lymphknoten und die Milz reagieren mit 2 - 3 Tagen Verspätung in der gleichen Weise. Bei der Zweitverpflanzung treten diese Veränderungen im lymphatischen System rascher ein und sind stärker ausgeprägt.

Histologisch ist die leukozytäre Entzündung das charakteristische Merkmal der Abstoßung. Man erkennt eine Zellkonzentration an der Grenze Hautlappen - Wirt. Weiter dominierend sind mononukleare Zellen und Eosinophile in bescheidener Zahl (MONACO, 2). Plasmazellen sind Zeichen des Abstoßungsprozesses im späteren Stadium, aber im Vergleich zu den anderen zellulären Gebilden rar.

Bei Heterotransplantationen sind die Probleme noch schwieriger und ausgeprägter. Sie liegen hier in der großen Differenz der individualspezifischen Antigene der einzelnen Tierarten. Je näher Tierarten verwandt sind, desto weniger heftig ist die immunologische Reaktion. Im allgemeinen erzeugt ein Heterotransplantat (in der amerikanischen Literatur "Xenograft" genannt) unter Säugetieren eine schnellere und heftigere Reaktion als ein Homotransplantat ("Allograft"). Hauttransplantate zwischen Nagetieren erhalten einen minimalen Kontakt zum Bett und vascularisieren kaum bevor die erste Abstoßungsreaktion wirksam zu werden beginnt (RUSSEL, MONACO, 2). Nach EGDAHL

et al. (5) liegt der Durchschnitt der Überlebenszeit der Transplantate bei heterologen Hautübertragungen zwischen unbehandelten Kaninchen und Ratten bei 5, 9 Tagen. Bei 70 Verpflanzungen lebt nach EGDAHL kein Transplantat länger als 8 Tage.

Das Ziel der homologen oder heterologen Transplantation ist, eine Tolerierung des Fremdgewebes zu erreichen. Die Grundlage hierfür muß also in der Hemmung oder der Aufhebung der Antigen-Antikörper-Reaktion liegen. Folgende zwei Möglichkeiten bieten sich hierzu an:

1. Der Spender oder das Transplantat wird vorbehandelt, d.h. man versucht, die Antigenität des Transplantatspenders oder des Transplantates allein zu verringern oder aufzuheben. Dies wird mit Bestrahlung, mit Einwirkung von Kälte, mit Gefriertrocknung, mit Fermenteinwirkung wie Streptokinase und auch mit Durchströmung des Transplantates mit Stromstärke und Spannung versucht (GEMÄHLICH, 6). Man will hier ein reversibles, verändertes Protein erzeugen, das spezifische Gewebsantikörper induziert. Wenn diese spezifischen Antikörper nach 3 bis 4 Tagen auf die bereits wieder reversibel veränderten Eiweißstrukturen treffen, finden sie keinen Reaktionspartner mehr. Leider zeigt sich diese Hypothese im Versuch wenig erfolgreich. Eine weitere Möglichkeit wäre, schon den Spender des Transplantates mit Antigenen des Empfängers vorzubehandeln, indem man Hautstücke des Empfängers auf den Spender überträgt und ihn damit auf eine spätere Hauttransplantation vom Spender auf den Empfänger vorbereitet. Die gleiche Möglichkeit besteht mit injizierten zerkleinerten Milzzellen oder RNS.

2. Der andere Weg der Vorbehandlung bezieht sich auf den Empfänger des Transplantates, d.h. man versucht die Antikörperbildung zu unterdrücken oder auszuschalten. Dabei bieten sich verschiedene Möglichkeiten an:

- a) die Röntgenbestrahlung und Knochenmarksübertragung
- b) die Transfusion von Blut oder Blutzellen des Spenders
- c) die Behandlung mit Pharmaka
- d) die Transplantation vor der Adaptationsperiode und
- e) die Antikörperablenkung durch massive Desensibilisierung mit Fremdeiweiß.

Die moderne Forschung ist bemüht, Toleranz durch Injektionen von Fremdanthigenen vor der Adaptationsperiode zu erzielen. Jeder Organismus macht während des Embryonalstadiums einen immunologischen Reifungsprozeß durch, dessen Abschluß artspezifisch und auch zeitlich verschieden ist. Vor Erreichung dieser immunologischen Reife heilen Transplantate ein, da dem Körper die Fähigkeit sowohl zur Erkennung der fremden genetischen Struktur, als auch zur Bildung entsprechender Antikörper fehlen (KASPAR, BÜCHERL, 7). Bei Mäusen und Ratten ist der immunologische Reifungsprozeß nach allgemeiner Ansicht spätestens 2 bis 4 Tage nach der Geburt abgeschlossen (BILLINGHAM, BRENT, 8). Daraus ist zu folgern, daß sich eine aktive Toleranz dadurch erwerben läßt, indem man einem Embryo in utero oder in den ersten Lebenstagen ein Antigen verabreicht (BILLINGHAM, 9).

BRENT und MEDAWARE gelingt es (10) aktive erworbene Toleranz zu erzeugen, indem sie Mäuseembryos in utero mit einer Suspension lebender Milzzellen spritzen. Dem in der embryonalen Entwicklung verabreichten Antigen folgt auch im Erwachsenenalter keine immunologische Reaktion. So kommt es, daß die erwachsenen Tiere die Haut dieses den Milzzellen entsprechenden Stammes, nicht aber die anderer Stämme tolerieren (MONACO, 2).

Durch Injektion großer Mengen nichtzellulärer zerkleinerter Milzzellen, die durch mechanische Homogenisation hergestellt werden, zeigen MARTINEZ et al. (11) daß es möglich ist, spezifische immunolo-

gische Toleranz auch zwischen zwei erwachsenen, nicht verwandten Mäusestämmen zu erzeugen.

HOWARD und MARTINEZ (12) erreichen bei erwachsenen verschiedenen Stämmen von Mäusen durch Verabreichung von subzellulären Milzfraktionen Toleranz. Sie finden, daß diese Fraktion und speziell die mikrosomale Fraktion Toleranz erzeugen kann.

Durch intraperitoneale Injektion von aus Milzzellen gewonnener RNS in erwachsene Ratten läßt sich nach ASHLEY et al. (13) und AXELROD (14) Toleranz nachweisen. ASHLEY (15) beweist durch weitere Versuche, daß die Toleranz der Tiere mit steigenden Dosen von RNS wächst. Er ist der Meinung, daß die injizierte RNS schnell von Ribonukleasen im Blut, Plasma und Lymphe zerstört wird. Mit Ansteigen der Quantität und Frequenz der Injektionen erwartet er, daß auch ein Anwachsen der RNS in der Zelle an Stellen vor sich geht, wo es Ribonukleasen relativ unmöglich ist, sie zu zerstören. Die durch häufige Injektionen anwachsende Menge der RNS kann also eine größere Konzentration in den einzelnen Zellen erreichen. Die Antigene könnten für die verlängerte Zeit den Gipfel unterhalten und damit könnte Toleranz eintreten.

Diffiziler und weniger erfolgreich sind die Versuche bei Heterotransplantationen. Durch die schnellere und heftigere immunologische Reaktion bei heterologen Säugetieren ist es auch viel schwieriger, immunologische Toleranz zu erreichen.

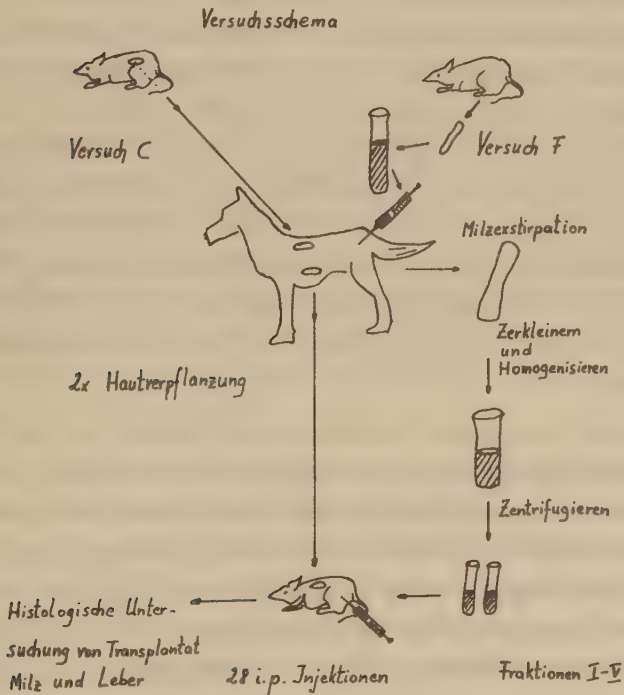
ZAALBERG und Mitarbeiter (16) beobachteten, daß als Ergebnis der Verabreichung von Rattenknochenmark eine dauernde Proliferation von Rattenblutzellen in Mäusen vorhanden ist, die eine tödliche Totalkörperbestrahlung überleben. Sie versuchen nun, ob diese "radiation chimeras" Hauttransplantate der Knochenmarkspenderratten akzeptieren. In 10 Fällen werden eingewachsene Transplantate zwischen 58 und 108

Tagen erreicht.

EGDAHL et al. (17) verwenden Kaninchen und Ratten zu ihren Transplantationsversuchen. Sie stellen Milzpräparate von Kaninchen mit meist lebenden intakten Zellen her. Diese Zellsuspension wird Rattenföten injiziert, indem bei schwangeren Ratten der Uterus aufpräpariert und alle Föten mit 0.01 ccm i.p. gespritzt werden. Im Alter von 6 Wochen wird dann auf diese Tiere Kaninchenhaut transplantiert. Hierbei kann eine Verlängerung der Transplantate erreicht werden. KENNETH und MATSURA (18) verpflanzen fetale menschliche Haut aus dem 4. Gestationsmonat auf Mäuse. Zwanzig Prozent zeigen eine gute Überlebenszeit. REILLY und WOODRUFF (19) versuchen, Rattenhaut auf Mäuse zu übertragen. Sie bestrahlen neugeborene Mäuse innerhalb der ersten 12 Stunden nach der Geburt mit einer Dosis von 200 r und behandeln andere mit Rattenknochenmark i.v.. Im Alter von sechs Wochen werden auf die Mäuse Hautspaltlappen transplantiert. Bei diesem Verfahren zeigen sehr viele Mäuse die Symptome der "runt-disease" (gekräuselte Haare, gekrümmte Haltung, Diarrhoe und Gewichtsverlust). Bei den überlebenden Tieren aber, sind verschiedene Grade von Teiltoleranz zu beobachten.

## II. Material und Methoden

Wir hatten uns zur Aufgabe gestellt, Hundehaut auf Mäuse zu verpflanzen. Dazu versuchten wir, die beiden vorerwähnten Möglichkeiten der Vorbehandlung zu kombinieren.



### 1. Vorbehandlung des Hundes

Verwendet werden ein Bastardhund und weiße Mäuse eines reinerbigen Stammes NMRJ in der dreiundfünfzigsten Generation. Das Mäusegewicht beträgt ungefähr 22 g.

Sieben Mäuse werden getötet und die Rückenhaut nach kurzer Aufbewahrung in Ringerlösung auf den Bastardhund transplantiert.

Der Hund wird mit Trapanal kurz narkotisiert. Mit einem Elektrorasierapparat wird die Bauchseite rasiert und die kurzen Stoppelhaare mit Pilca entfernt. Unter möglichst sterilen Bedingungen werden dann der Bauchseite des Hundes sieben ovale Vollhautlappen von der Größe einer Ellipse mit den Achsen 4 und 2.5 cm entnommen. Nach der Fläche der entstandenen Wunde des Hundes wird die Mäusehaut zugeschnitten und anschließend mit 2-0-Seide auf den Hund genäht. Nach 3 bis 4 Tagen hat der Hund sämtliche Transplantate abgekratzt oder abgeissen. Am fünften Tag nach der Ersttransplantation (in der amerikanischen Literatur "first-set" genannt) transplantiert man in gleicher Weise nochmals sieben Mäusefelle. Die Wundränder sind zusammengezogen, das Transplantatbett mit Granulationsgewebe ausgefüllt. Die Zweittransplantation ("second-set") wird in der gleichen Weise vom Hund abgekratzt und abgeissen.

Für den nächsten Versuch zur Vorbehandlung des Hundes wird eine Homogenisat aus Mäusemilzen hergestellt und dieses einem anderen Bastardhund subcutan injiziert. Dreißig Mäuse des Stammes NMRJ werden durch Ätherüberdosierung getötet und die Milzen herausgenommen. Das Gewicht einer Mäusemilz liegt bei 0.08 bis 0.1 g. Die Milzen werden in einer selbst hergestellten 0.25 molaren Saccharoselösung kurz aufbewahrt und dann zerkleinert. Die etwa reiskorngroßen Stücke werden in der Lösung ausgewaschen und im Eisschrank abgekühlt. Mit einem Homogenisator, dessen eingeschliffener Glaskolben und Zylinder ebenfalls vorgekühlt sind, werden die Milzstücke homogenisiert.

Anschließend wird das Homogenisat der 30 Mäusemilzen in drei Reagenzgläser zu gleichen Teilen abgefüllt. Ein Teil zu 2 ccm wird zur Aufbewahrung in einer Tiefkühltruhe bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Im Abstand von 8 Tagen werden nun dem Bastardhund 3 mal 2 ccm dieses Homogenats

subcutan in die linke hintere Gesäßgegend injiziert.

## 2. Herstellung des Milzhomogenates zur Vorbehandlung der Mäuse

Acht Tage nach der Zweittransplantation der Mäusehaut auf den Hund wird unter sterilen Bedingungen die Milz exstirpiert. Den Hund hat man mit Trapanal kurz narkotisiert, anschließend intubiert und beatmet. Während der Operation erhält er eine Infusion mit fünfprozentiger Glukose und ein Antibiotikum.

Die exstirpierte Milz wird sofort in sterile Ringerlösung gelegt und immer wieder ausgedrückt. Danach trennt man die derbe Fascie der Milzoberfläche ab und schneidet das Milzgewebe in reiskorngroße Stücke. Diese Stücke werden dann immer wieder in einer 0.25 molaren Saccharoselösung gespült. Die Lösung besteht aus gleichen Teilen 0.25 M Saccharose, 0.05 M tris-puffer, 0.025 M KCL und 0.005 M Magnesiumchlorid, und ist auf 4°C abgekühlt (MONACO, RUSSEL, 20). Der pH der Lösung beträgt 7.2.

Diese mit Saccharoselösung getränkten reiskorngroßen Stücke werden nun in einen Mörser geschüttet, mit flüssiger Luft übergossen und werden sofort hart. Im Mörser zerreibt man dann diese Stückchen bis zur Größe von mittelgrobem Sand. Nach Ausspülung des Mörsers mit gekühlter Saccharoselösung wird diese Aufschwemmung in einen Glaszylinder des Homogenisators geschüttet. Der Glaszylinder steht in einem großen Becherglas, das mit Eiswürfeln angefüllt ist. Der eingeschliffrne Kolben und der Zylinder sind ebenfalls vorgekühlt. Bei der hohen Geschwindigkeit homogenisiert man diese Aufschwemmung zweimal eine Minute mit einem Braun-Homogenisator. Dazwischen ist es nötig, immer wieder eine kleinere Pause einzulegen, um die, durch die hohe Umdrehung entstandene Wärme über den eisgekühlten Zylinder abzuleiten.

Das auf diese Weise erhaltene Homogenisat wird nun in vier gleiche Teile aufgeteilt und in einer Kühlzentrifuge bei Temperaturen zwischen 2° und 8°C zentrifugiert. Es werden vier verschiedene Fraktionen hergestellt:

|              |              |
|--------------|--------------|
| Fraktion I   | bei 10.000 g |
| Fraktion II  | bei 20.000 g |
| Fraktion III | bei 25.000 g |
| Fraktion IV  | bei 30.000 g |

Die Höchstleistung der uns zur Verfügung stehenden Kühlzentrifuge liegt bei 30.000 g. Das Homogenisat wird in sechs kleine Plastikzentrifugen-zylinder umgefllt. Dabei wurden die Zylinder sorgfältig ausgewogen und jede Fraktion 15 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wird abgeschüttet und mit einer großen Pipette abgesaugt. Nun fllt man diesen Überstand mit Saccharoselösung so weit auf, daß sich in je 28 kleinen Reagenzgläsern je 1 ml dieser berstandflssigkeit befindet. Insgesamt erhält man 4 mal 28 Reagenzgläser mit je 1 ml abzentrifugiertem Hundemilzhomogenisat.

Im nächsten Versuch wird die Milz des Hundes 8 Tage nach Verabreichung der letzten Injektion des Musemilzhomogenats exstirpiert. Hier geht man in der gleichen Weise wie oben beschrieben vor. Nach Abtragung der Fascie wird das Milzgewebe zerschnitten und in Saccharoselösung ausgewaschen. Um dieses Gewebe noch weiter zu zerkleinern, wird hier auf die Verwendung flüssiger Luft verzichtet, da Bedenken bestehen, daß die Eiweißstrukturen Schaden erleiden könnten. So wird, immer unter Beachtung der vorgekühlten Geräte zur Zerkleinerung, ein Ultraturax verwendet. In 2 mal 1/2 Minute zerkleinert dieser das Milzgewebe zu einem Brei. Als Lösung wird dabei wieder Saccharoselösung von 4°C verwendet. Dieser Brei wird anschließend nochmals in der schon beschriebenen Weise homogenisiert. Auch hier wird das Hundemilzhomogenat wieder zentrifugiert. Allerdings kommen diesmal nur zwei Fraktionen zur Anwendung.

Fraktion V    =    1.000 g

Fraktion IV   =   30.000 g

Der erste Versuch wird mit dem Buchstaben C bezeichnet, der zweite Versuch mit F.

### 3. Die Vorbehandlung der Mäuse

Um die erwachsenen Mäuse des Stammes NMRJ zu sensibilisieren, wird jede Maus jeden Tag 28 Tage lang mit 0.1 ccm des hergestellten, zentrifugierten Hundemilzhomogenisats i. p. injiziert. Dabei wird auf eine Arbeit von MONACO und RUSSEL (20) Bezug genommen, die über Dosis und Injektionsart den Maßstab gibt.

Im Versuch C injizieren wir einer Maus pro Tag eine Dosis von 70 mg Milzäquivalent ( se = spleen equivalent ). Es werden also für eine Maus über 28 Tage 1.960 mg Milz benötigt. Innerhalb einer Fraktion werden 10 Mäuse des gleichen Stammes, also insgesamt 40 Mäuse, gespritzt. Die Lösung des Homogenisats innerhalb der Fraktionen ist so berechnet, daß pro Tag für jede Fraktion 1 ml des Homogenisats in einem Reagenzglas bei  $-20^{\circ}\text{C}$  in einer Kühltruhe eingefroren ist. Eine Maus erhält eine Injektion von 0.1 ml, was einem Milzgewicht von 70 mg entspricht. Das eingefrorene Homogenisat wird kurz vor der Injektion in einem Wasserbad von Zimmertemperatur aufgetaut, dann in Tuberkulinspritzen von 1 ml Inhalt aufgezogen und mit Kanülen Nr. 18 auf der Bauchseite der Maus kurz überhalb des Leistenbandes eingespritzt.

### 4. Die Transplantation

Zwei bis drei Tage nach der letzten Injektion werden die vorbehandelten Mäuse transplantiert.

Zuerst bereitet man den Bastardhund, der uns die Milz für das Injektions-

homogenisat spendete, zur Hautentnahme vor.

Die Haut wird von der Bauchseite, den Flanken und vom Rücken entnommen. Im Versuch C werden Vollhautstücke mit steriler Pinzette und Skalpell abgetrennt. Die entstandenen kleinen Blutungen können mit dem Elektrocauter verschorft werden. Die Vollhautstücke kommen nun sofort in sterile Ringerlösung. Die verbleibende Wunde wird durch Zusammenziehung der Wundränder mit Einzelnähten unter Verwendung von 2-0-Mersilene verschlossen. Die Vollhaut wird an der Unterseite vom Unterhautfettgewebe befreit bis die Poren der Haut sichtbar werden. Die Dicke der Haut beträgt dann je nach Entnahmestelle noch 0.5 bis 1 mm. Nach der Entnahme schrumpft dieser Hautlappen bis auf 40 % seiner normalen Größe zusammen (s. GEORG, 21).

Die vorbehandelten Mäuse erhalten Äthernarkose. Die Haare auf dem Mäuserücken entfernt man mit Pilca und säubert die Haut mit Äther. Zur Erhaltung der Narkose wird ein kleines, mit einigen Stückchen Mull ausgelegtes Becherglas verwendet, in das immer etwas Äther nachgetropft wird.

Bei völliger Entspannung der Maus und regelmäßiger Atmung wird aus der Rückenhaut das Transplantatbett ausgeschnitten. Auch der panniculus carnosus wird entfernt, sodaß die Muskelfascie freiliegt. Aufgrund der Elastizität der Haut und durch die extreme Beweglichkeit des lockeren subcutanen Fettgewebes der Maus klafft die Öffnung viel weiter auf als sie der Größe des entnommenen Stückes entspricht. Die Form des Transplantates wird oval, in Form einer Ellipse, gewählt. Die Vollhauttransplantate des Hundes werden nun nach der Größe der Öffnung so zugeschnitten, daß sie etwas kleiner als die Öffnung sind. Es soll damit erreicht werden, daß das Transplantat fest und ohne Toträume auf dem Transplantatbett aufsitzt. Das Hauttransplantat wird jetzt in 6 bis 8 Einzelnähten mit 5-0 atraumatischer Seide mit der Mäusehaut vernäht.

Im Versuch F werden aufgrund vorhergehender Beobachtungen (s. Ver-

such D, JÜTTNER) zwei Schablonen verwendet. Durch die Erfahrung, daß die Vollhaut des Hundes nach Entnahme bis zu 40 % schrumpft (s. GEORG, 21) und die Öffnung des Transplantatbettes noch weiter aufklafft, werden verschieden große Schablonen in Ellipsenform berechnet. Die größere Schablone wird, nachdem die Hundehaut gesäubert ist, auf den narkotisierten Hund aufgelegt und die Umrisse mit Fettstift nachgezeichnet. Im Anschluß daran wird das Hautstück in der gleichen Art wie oben beschrieben, entnommen. Die zweite Schablone ist so berechnet, daß sie in der Fläche der Ellipse um ein Drittel weniger Flächeninhalt besitzt. Diese ausgeschnittene Vorlage wird der Maus nach Säuberung der Haut aufgelegt und ebenfalls nachgezeichnet. Das Transplantatbett wird nach dieser Form herausgeschnitten. Auf diese Weise wird erhofft, die Schrumpfung und das Klaffen des Transplantatbettes zu überwinden und die Haut in einer annähernd physiologischen Spannung einnähen zu können.

Nach der Transplantation werden die Mäuse in Einzelkäfigen gehalten.

Je nach Tolerierung der Haut werden nach einigen Tagen - die Zeiten waren verschieden lang - die Mäuse zum zweiten Mal transplantiert ("second-set"). Die Transplantation gestaltet sich diesmal etwas schwieriger, da sich auf der Wundfläche oft stellenweise schon ein stark durchblutetes Granulationsgewebe gebildet hat. Die vom first-set her narbig veränderten Wunden werden ausgeschnitten, sodaß neue Wundränder entstehen und das Granulationsgewebe unter soweit wie möglich sterilen Bedingungen abgetragen. Erst als das Transplantatbett gesäubert und eben und neue Wundränder vorhanden sind, wird zum zweiten Mal Haut vom gleichen Hund auf die Mäuse übertragen. Die Methode ist genauso wie oben beschrieben.

### III. Ergebnisse

#### 1. Die Vorbehandlung des Hundes

Über die Sensibilisierung des Hundes können, wie schon erwähnt, keine konkreten Aussagen gemacht werden. Die im Versuch C auf den Hund transplantierten Mäusehautstücke konnten weder auf Überlebenszeit, noch auf Angehen beurteilt werden, da sie vom Hund schon vor dieser Zeit abgekratzt oder abgebissen wurden. Im Versuch F wurde der Hund mit Milzhomogenat von Mäusen des Stammes NMRJ vorbehandelt; er zeigte keine Reaktion. Die Injektionsstelle war reizlos.

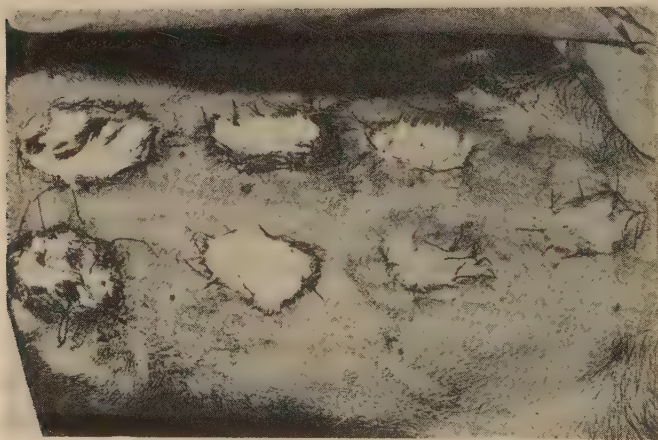


Abb. 1: "first-set" des Versuches C am Tag der Transplantation

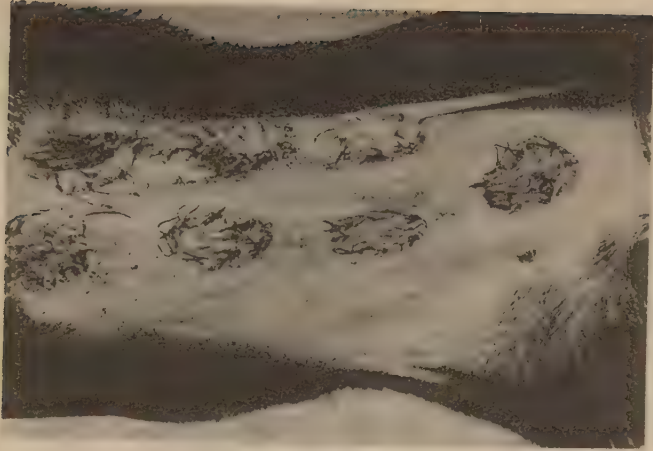


Abb. 2: "first-set" des Versuches C, einen Tag nach der Transplantation

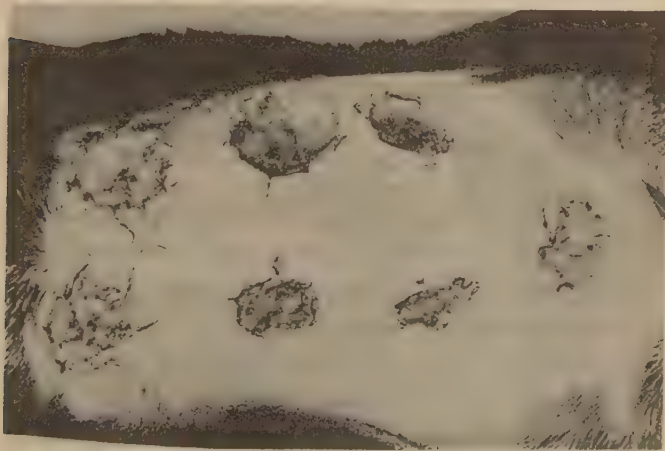
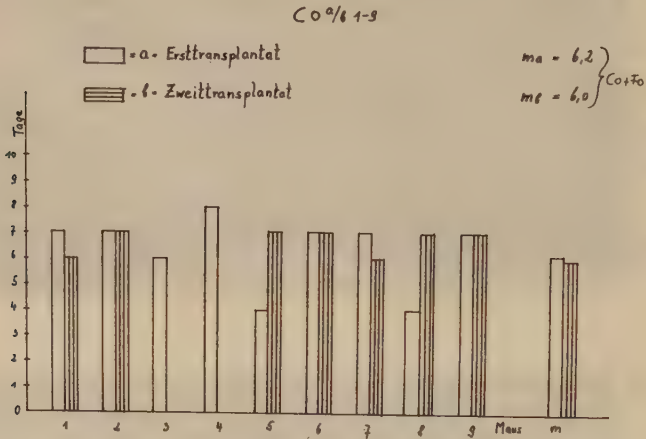


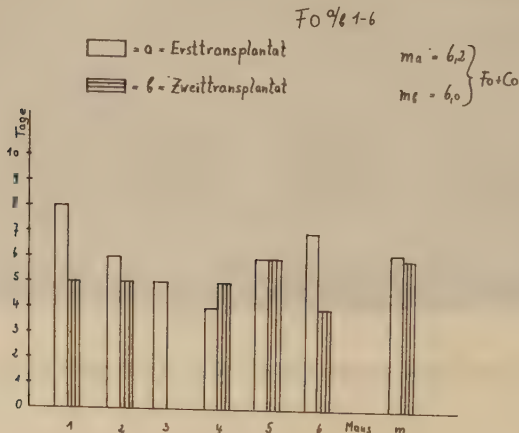
Abb. 3: "first-set" des Versuches C, vier Tage nach der Transplantation

## 2. Transplantation vom vorbehandelten Hund auf unbehandelte Mäuse

Die Haut des vorbehandelten Hundes wird auf unbehandelte Mäuse des Stammes NMRJ übertragen. Die Tabelle C 0 zeigt folgende Ergebnisse:



Tab. 1: Kontrollversuch der Versuchsreihe C. Die Maus Nr. 6 dieses Versuches starb bei der Narkose des "first-set". Die Mäuse 3 und 4 an der Narkose des "second-set".



Tab. 2: Kontrollversuch der Versuchsreihe F. Die Maus Nr. 3 des Versuches F 0 wurde nach der Ersttransplantation zur histologischen Untersuchung von Milz und Leber getötet.

## Zeichenerklärung zu den Tabellen

|                       |                                                                                                                                                      |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| C und F               | Benennungen der Versuche                                                                                                                             |
| 0 (= Null)            | Die Mäuse sind unbehandelt                                                                                                                           |
| I bis V               | Bezeichnung der einzelnen Fraktionen                                                                                                                 |
| a                     | Erstverpflanzung ("first-set")                                                                                                                       |
| b                     | Zweitverpflanzung ("second-set")                                                                                                                     |
| 1 bis 10              | Numerierung der in Einzelkäfigen gehaltenen Mäuse                                                                                                    |
| m                     | Arithmetisches Mittel der Überlebenstage des Transplantates nach der Formel $m = \frac{\sum x}{n}$                                                   |
| $\sigma$              | Streubreite der Einzelwerte $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (\Delta x)^2}{n-1}}$                                                                          |
| $\bar{\sigma}$        | Mittlerer Fehler des Mittelwertes $\bar{\sigma} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$                                                                           |
| $m \pm 3\bar{\sigma}$ | Signifikanz.<br>Hierin liegen 99.7 % aller möglichen Mittelwerte. Ein Mittelwert, der außerhalb dieser 3 -Grenze liegt, ist signifikant verschieden. |

## Erläuterung der Tabellen 1 und 2

In den Versuchen C 0 und F 0 wurden insgesamt 15 Mäuse transplantiert. Die Überlebenszeiten der Transplantate schwanken zwischen 4 bis 8 Tagen. Der Mittelwert  $m_a$  beträgt bei der Ersttransplantation 6.2 Tage.  $3\bar{\sigma}$  ist  $\pm 1.05$  Tage, sodaß ein anderer Mittelwert erst verschieden ist, wenn er außerhalb von 5.15 und 7.25 Tagen liegt. Bei der Zweitverpflanzung wurden 12 Mäuse transplantiert. Hier liegt die Streubreite der Überlebenszeit der Transplantate zwischen 4 und 7 Tagen. Der Mittelwert  $m_b$  beträgt 6.0 Tage; die  $3\bar{\sigma}$  -Grenze  $\pm 0.93$  (1 Tag). Ein Mittelwert der signifikant verschieden von  $m_b$  sein soll, muß also außerhalb von 5 und 7 Tagen liegen.

Die Abbildungen 4 bis 6 sollen ein Beispiel einer Ersttransplantation des Versuches F 0 darstellen. Die Fotografien zeigen die Maus F 0 a 6 vom Transplantationstag bis zum Abstoßungstag.

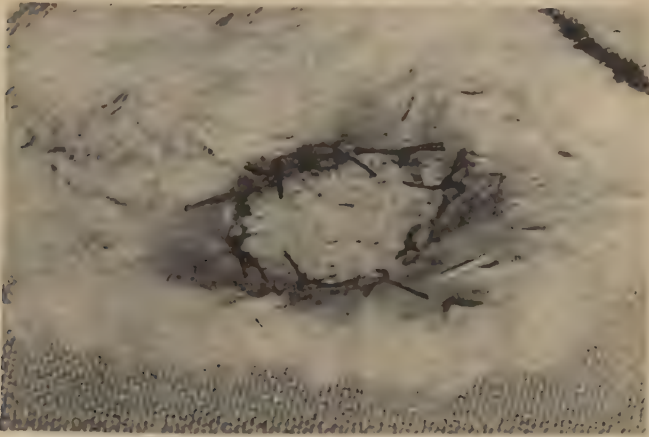


Abb. 4: Ersttransplantation des Versuches F 0 am Transplantationstag

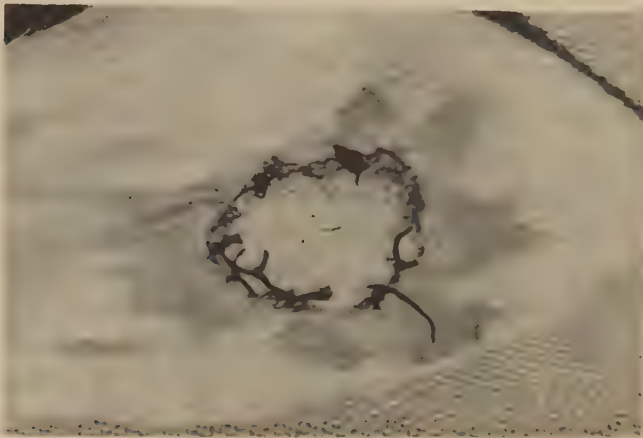


Abb. 5 Die gleiche Maus 5 Tage später. Das Transplantat ist im Kern noch weich, aber am Rand erkennt man schon Verhärtungen und teilweises Aufheben des Transplantates.

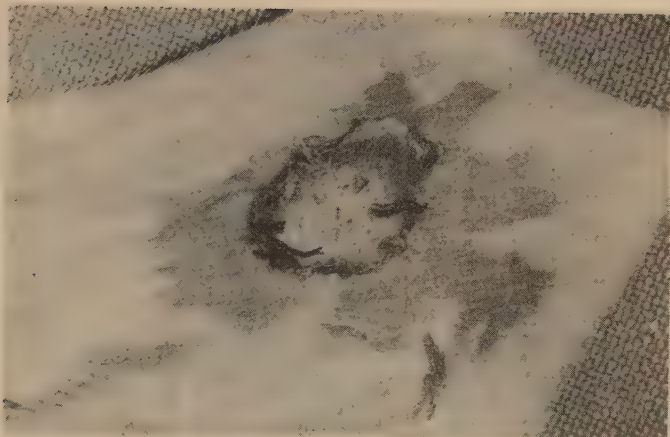


Abb.6: Die gleiche Maus 7 Tage nach der Transplantation. Das Transplantat ist geschrumpft, vom Rand zieht sich zentralwärts die Nekrose, die Ränder sind an vielen Stellen angehoben. Nach diesem Befund wird dieser Tag als Abstoßungstag bezeichnet. Das Transplantat wird mit dem Transplantatbett entfernt.

Die Häufigkeit der Einzelwerte für beide Versuche verteilt sich wie folgt:

| Ersttransplantation |            |
|---------------------|------------|
| Tage                | Häufigkeit |
| 4                   | 3          |
| 5                   | 1          |
| 6                   | 3          |
| 7                   | 6          |
| 8                   | 2          |

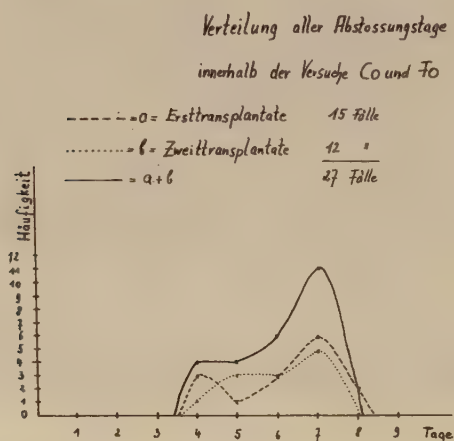
15

| Zweittransplantation |            |
|----------------------|------------|
| Tage                 | Häufigkeit |
| 4                    | 1          |
| 5                    | 3          |
| 6                    | 3          |
| 7                    | 5          |
| 8                    | 0          |

12

Daraus ergibt sich eine Verteilungskurve für die Erst- und Zweittransplantation. Es überlagern sich hier jeweils 2 Kurven. Der Aussagewert ist bei so wenigen Fällen natürlich mit sehr großen Fehlerbreiten behaftet.

Da sich aber Erst- und Zweittransplantation nicht nennenswert voneinander unterscheiden, werden beide Kurven zusammen nochmals aufgezeichnet. Daraus ist zu ersehen, daß der Gipfel zwischen 6 und 7 Tagen liegt.

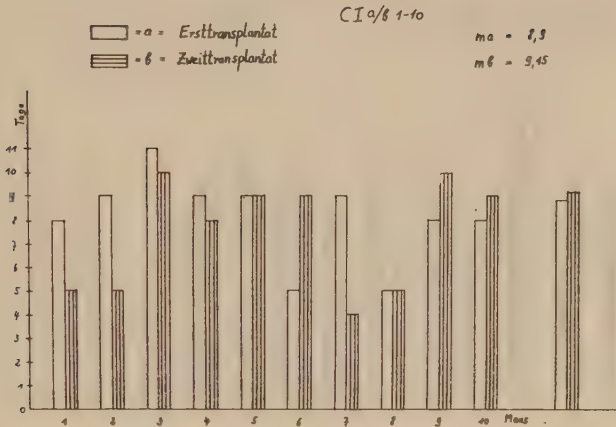


Tab. 3: Verteilungskurve der Erst- und Zweittransplantation der Versuche C 0 und F 0 zusammen.

### 3. Die Transplantation vom vorbehandelten Hund auf vorbehandelte Mäuse

Die vorbehandelten Mäuse vertragen die Menge der injizierten subzellulären Milzfraktionen gut. In den Versuchen C und F ist kein Ausfall zu objektivieren. Auch "runt-disease" tritt nicht auf. Die Mäuse erhalten 28 Tage lang jeden Tag eine Injektion von 70 mg Milzäquivalent mit verschiedenen Fraktionen des Milzhomogenats.

Versuch C ----- Fraktion I ----- 10.000 g  
=====

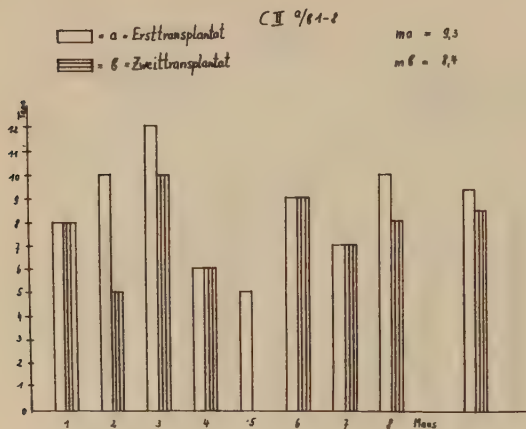


Tab. 4: In dieser Fraktion werden 10 Mäuse behandelt und transplantiert.

Die Tabelle zeigt, daß die Streubreite der Tage bis zur Abstoßung des Transplantates zwischen 4 und 11 Tagen liegt. Der Mittelwert beträgt bei der Ersttransplantation 8.9 Tage; die 3 $\sigma$ -Grenze  $\pm$  1.05 Tage; die Signifikanz damit von 7.85 bis 9.95 Tage.

Für den "second-set" der Fraktion I erhielten wir eine Streubreite von 4 bis 10 Tagen. Interessant ist hier schon, daß bei 6 und 7 Tagen keine Abstoßung beobachtet werden kann. Der Mittelwert  $m b^I$  ist hier 9.15 Tage; die 3 $\sigma$ -Grenze 0.21 Tage, die Signifikanz 8.95 bis 9.35 Tage.

Versuch C      Fraktion II      20.000 g  
=====

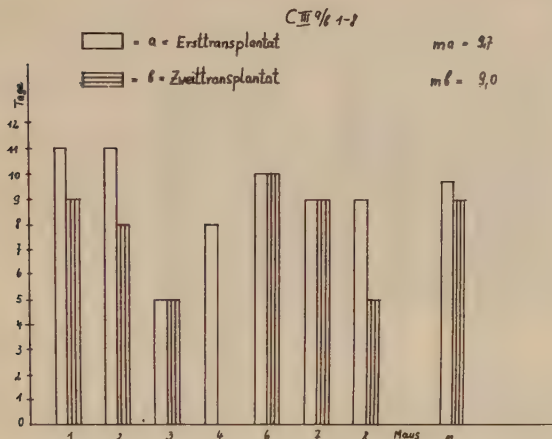


Tab. 5: Die Mäuse Nr. 9 und 10 sterben bei der Ersttransplantation an der Überdosierung von Äthernarkose. Die Maus Nr. 5 starb bei der Zweitverpflanzung ebenfalls in der Narkose.

Die Streubreite der Werte liegt hier zwischen 5 und 12 Tagen für den "first-set". Der Mittelwert  $ma^{II}$  beträgt 9.3 Tage; die  $3\sigma$ -Grenze 2.15 Tage, die Signifikanz 7.15 und 11.45 Tage.

Für die Zweitverpflanzung ergibt sich eine Streubreite von 5 bis 10 Tagen. Der Mittelwert  $mb^{II}$  beträgt 8.4 Tage; die  $3\sigma$ -Grenze  $\pm 1.6$  Tage, die Signifikanz 6.8 und 10.0 Tage.

Versuch C      Fraktion III      25.000 g

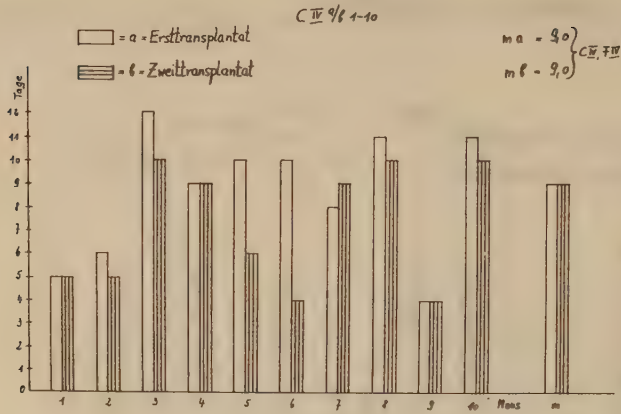


Tab. 6: Hier sterben bei der Ersttransplantation die Mäuse Nr. 5, 9 und 10 in der Äthernarkose. Die Maus Nr. 4 ebenfalls bei der Zweittransplantation.

Der Zeitraum bis zur Abstoßung in dieser Fraktion liegt zwischen 5 und 11 Tagen. Der Mittelwert  $m a^{III}$  war 9.7 Tage; die 3 $\sigma$ -Grenze  $\pm$  1.4 Tage, die Signifikanz 8.3 und 11.1 Tage.

Innerhalb der Fraktion III werden beim "second-set" noch 6 Mäuse transplantiert. Die Abstoßung wird vom 5. bis 10. Tag beobachtet. Der Mittelwert  $m b^{III}$  errechnet sich bei 9.0 Tagen; die 3 $\sigma$ -Grenze beträgt 0.4 Tage und damit die Signifikanz 8.6 und 9.4 Tage. Auch hier ist bemerkenswert, daß am 6. und 7. Tag bei der Erst- wie Zweitverpflanzung keine Abstoßung erfolgt.

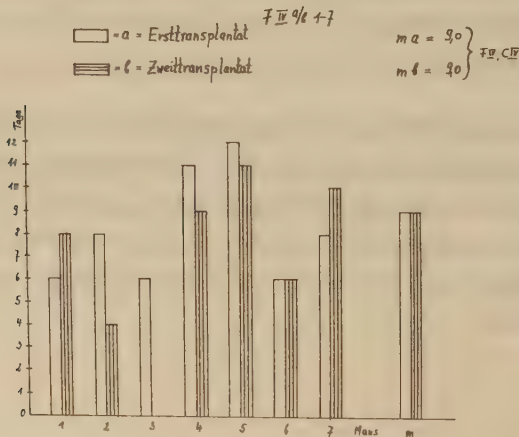
Versuch C      Fraktion IV      30.000 g



Tab. 7: Zu dieser Fraktion des Versuches C wird, um eine größere Breite zu erreichen, die Fraktion IV des Versuches F zur Errechnung des Mittelwertes herangezogen.

Die Streubreite der einzelnen Tage bis zur Abstoßung liegen zwischen 5 und 12 Tagen bei der Ersttransplantation. Bei der Zweittransplantation zeigt sich eine Breite von 4 bis 10 Tagen.

Versuch F      Fraktion IV      30.000 g



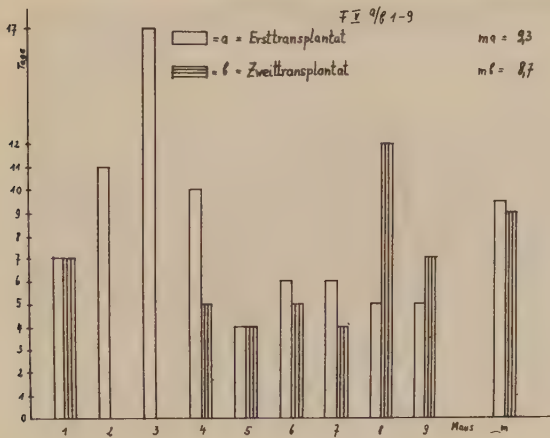
Tab. 8: Maus 8 stirbt bei der Narkose, Maus 10 wird für die Histologie verwendet.

In dieser Fraktion zeigt der "first-set" Werte von 6 bis 12 Tagen; der Zeitraum im "second-set" erstreckt sich auf 4 bis 11 Tage.

Der Mittelwert für die Fraktion IV der Versuche C und F beträgt  $m a^{IV}$  9.0 Tage. Die  $3\sigma$ -Grenze 2.0 Tage, die Signifikanz 7.0 und 11.0 Tage.

Der Mittelwert  $m b^{IV}$  für diese Fraktion liegt bei der Zweitverpflanzung ebenfalls bei 9.0 Tagen. die  $3\sigma$ -Grenze  $\pm 1.65$  Tage, die Signifikanz bei 7.35 und 10.65 Tagen.

Versuch F      Fraktion V      1.000 g  
 =====



Tab. 9: Bei dieser Fraktion werden den Mäusen Nr. 3 und 10 wieder Milz und Leber zur histologischen Untersuchung nach 28maliger Injektion entnommen. Die Maus Nr. 2 stirbt in der Narkose zur Zweitverpflanzung.

Hier ist die Streubreite der Einzelwerte sehr groß, da bei der Erstver-

pflanzung ein Transplantat 17 Tage überlebt. Sie liegt bei 4 bis 17 Tagen. Der Mittelwert  $m a^V$  beträgt 9.33 Tage; die  $3\sigma$ -Grenze  $\pm 3.5$  Tage, die Signifikanz 6.0 und 13 Tage.

Bei der Zweitverpflanzung liegen die Werte fast genauso weit auseinander, sodaß es auch hier schwerfällt, einen Mittelwert zu berechnen. Der Mittelwert  $m b^V$  liegt bei 8.7 Tagen; die  $3\sigma$ -Grenze  $\pm 4.5$  Tagen, die Signifikanz bei 4.2 und ungefähr 13 Tagen.

Die folgenden Abbildungen sollen die Veränderung des Transplantates bis zum Abstoßungstag demonstrieren.

Abbildungen 7 bis 11 zeigen die Maus FVa3.

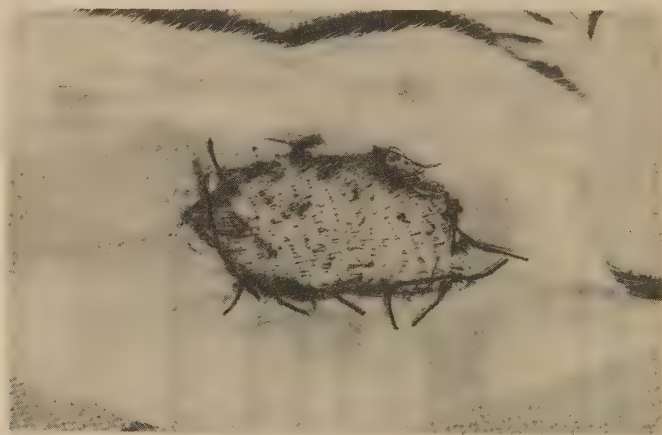


Abb. 7: Das Bild zeigt ein weiches Transplantat, das an den Rändern eingeeilt ist. Es ist 4 Tage nach der Transplantation aufgenommen worden.



Abb. 8: 6 Tage nach der Transplantation. Das Transplantat erscheint noch warm und weich, die Farbe ist beibehalten.



Abb. 9: 8 Tage nach der Transplantation. Das Transplantat erscheint immer noch weich, am Rand ist eine Stelle etwas hart geworden.

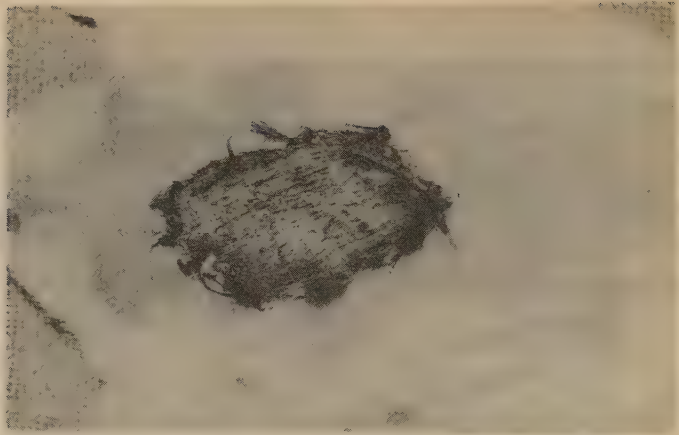


Abb. 10: 11 Tage nach der Transplantation. Das Transplantat ist noch weich, die Farbe ist dunkler geworden und am Rand zeigen sich leichte Verhärtungen.



Abb. 11: 15 Tage nach der Transplantation. Das Transplantat ist noch warm, oberflächlich fäst es sich hart an, ist aber in der Tiefe noch fest mit dem Transplantatbett verbunden. 2 Tage später, also 17 Tage nach der Transplantation ist es hart, obwohl es noch fest mit dem Bett verbunden ist und wird von uns als abgestoßen bezeichnet.

#### 4. Vergleich der Mittelwerte der Fraktionen I bis V und der Erst- und Zweittransplantation

Es zeigt sich, daß sich die Mittelwerte der einzelnen Fraktionen der Versuche C und F nur sehr wenig unterscheiden. Bei der Ersttransplantation liegen sie zwischen 8.9 und 9.7 Tagen. Dies konnte aufgrund der verschieden hoch fraktionierten Milzhomogenisate, die alle gleich lang Mäusen des gleichen Stammes injiziert werden, festgestellt werden und bestätigte sich auch bei der Zweittransplantation. Die Mittelwerte liegen hier zwischen 8.4 und 9.5 Tagen.

*Vergleich der Mittelwerte von  $m_a$  und  $m_b$*

|                             | <u>CI</u> | <u>CII</u> | <u>CIII</u> | <u>CIV, FII</u> | <u>FV</u> |
|-----------------------------|-----------|------------|-------------|-----------------|-----------|
| <i>Ersttransplantation</i>  | 8,9       | 9,3        | 9,7         | 9,0             | 9,3       |
| <i>Zweittransplantation</i> | 9,15      | 8,4        | 9,0         | 9,0             | 8,7       |

Tab. 10: Vergleich der Mittelwerte innerhalb der Fraktionen und der Erst- und Zweittransplantation.

Auch der Vergleich der Mittelwerte zwischen Erst- und Zweittransplantation ist sehr interessant. Bei dieser Gegenüberstellung findet man in 3 Fraktionen wohl etwas höhere Mittelwerte für die Ersttransplantation, aber nur in einem Fall beträgt der Unterschied fast einen Tag (Versuch C Fraktion II). In der Fraktion C I ist sogar der Mittelwert der Zweittransplantation um 0.25 Tage höher. Daraus ist zu schließen, daß durch

massive und lange Gabe von Fremdanitigen die behandelten Tiere kein "second-set"-Phänomen zeigen. Die Ersttransplantate zeigen im Vergleich zum Zweittransplantat also ebenfalls keinen wesentlichen Unterschied. Sie tolerieren die Spenderhaut gleich lang.

5. Vergleich der Mittelwerte der Kontrollversuche C 0 und F 0 mit den Mittelwerten der Fraktionen I bis V



Tab. 11: Vergleich der Mittelwerte der Fraktionen F 0 und C 0 mit den Mittelwerten der Fraktionen I bis V bei der Erst- und Zweittransplantation.

Eine Differenz der Mittelwerte der Kontrollversuche C 0 und F 0 zu den mittleren Überlebenszeiten der Transplantate der vorbehandelten Mäuse ist aus der Vergleichstabelle ersichtlich. Bei der Ersttransplantation liegt der Mittelwert der Versuche C 0 und F 0 bei 6.2 Tagen. Die Mittelwerte der einzelnen Fraktionen I bis V liegen im Durchschnitt unge-

fähr 3 Tage höher. Hier ist eine Verlängerung sichtbar. Wird aber die Signifikanz der Mittelwerte berücksichtigt, so sind nur die Fraktionen C I und C III signifikant verschieden. Bei den Fraktionen C II, C IV und F IV ist die Signifikanz ungefähr gleich, sodaß sich die Mittelwerte gerade noch voneinander unterscheiden. In der Fraktion F V liegt der signifikante Wert weit unter dem der Versuche C 0 und F 0. Hier ist die Streubreite der einzelnen Werte viel zu unterschiedlich (s. Tab. 9).

Bei der Zweittransplantation zeigen sich ähnliche Ergebnisse. Die Mittelwerte der Überlebenszeiten der Transplantate der vorbehandelten Mäuse liegen auch hier um ungefähr 3 Tage höher als die des Mittelwertes m b der Versuche C 0 und F 0. In den Fraktionen C I, C III, C IV und F IV sind die Mittelwerte signifikant verschieden vom Mittelwert m b (6.0 Tage). Die Fraktion C II überschneidet sich mit der Signifikanz der  $3\bar{\sigma}$ -Grenze des Mittelwertes m b nur ganz gering und kann als gleich bezeichnet werden. Wie bei der Ersttransplantation liegt auch beim "second-set" die Signifikanz der Fraktion V weit unter der Signifikanz der Vergleichsfraktionen.

Es zeigt sich also, daß durch die lange Vorbehandlung der Mäuse mit Milzhomogenisat eine, wenn auch geringe Verlängerung der Überlebenszeit der Transplantate erzielt werden kann.

Betrachtet man die Einzelwerte der vorbehandelten Mäuse innerhalb der Fraktionen auf die Überlebenszeiten, die über der  $3\bar{\sigma}$ -Grenze des Mittelwertes der Versuche liegen (C 0 und F 0 über 7.25 Tage bei der Ersttransplantation), so kann man erkennen, daß über die Hälfte der Transplantate länger überlebten. Von insgesamt 51 transplantierten Mäusen der Ersttransplantation in den Fraktionen C I bis F V überleben 33 (= 64.7 %) länger als 7 Tage. Bei 9 Mäusen werden die Transplantate zwischen dem Mittelwert 6.2 und  $3\bar{\sigma}$ -Grenze 7.25 Tage, also nach 6 und 7 Tagen abgestoßen (= 17.65 %) und weitere 9 Mäuse stoßen ihr Transplantat schon zwischen 4 und 5 Tagen ab (Transplantationsfehler!).

*Signifikant verschieden vom Mittelwert der Versuche C0 und F0*

|   | C I | C II | C III | C IV | F IV | F V |    |    |       |     |
|---|-----|------|-------|------|------|-----|----|----|-------|-----|
| a | 8   | 5    | 6     | 7    | 4    | 3   | 33 |    | 64,7% |     |
| b | 6   | 4    | 4     | 5    | 4    | 1   |    | 24 |       | 52% |

*Werte zwischen Mittelwert und 3 $\bar{6}$ -Grenze der Versuche C0 und F0*

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |     |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--------|-----|
| a | 0 | 2 | 0 | 1 | 3 | 3 | 9 |   | 17,65% |     |
| b | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 2 |   | 6 |        | 13% |

*Unter dem Mittelwert liegende Abstoßungstage*

|   |   |   |   |   |         |   |    |    |        |      |
|---|---|---|---|---|---------|---|----|----|--------|------|
| a | 2 | 1 | 1 | 2 | 0       | 3 | 9  |    | 17,65% |      |
| b | 4 | 1 | 2 | 4 | 1       | 4 |    | 16 |        | 35%  |
|   |   |   |   |   | Gesamt: |   | 51 | 46 | 100%   | 100% |

Tab. 12: Überlebenszeiten der Transplantate aller vorbehandelten Mäuse im Vergleich zu den Werten der Kontrollversuche.

Im oberen Teil der Tabelle werden alle Transplantate angeführt, die vom Mittelwert der Versuche C 0 und F 0 signifikant verschieden sind. Sie wurden also länger als 7,25 Tage toleriert.

Im mittleren Teil der Tabelle sind die Überlebenszeiten der Transplantate zusammengefaßt, die zwischen den Mittelwerten und der 3 $\bar{6}$ -Grenze der Versuche C 0 und F 0 liegen, also zwischen 6 und 7 Tagen.

Der untere Teil gibt die Überlebenszeiten der Transplantate, die schon nach 5 und weniger Tagen abgestoßen werden, an. Innerhalb der Tabelle wird noch zwischen a (=Ersttransplantation) und b (=Zweittransplantation) unterschieden.

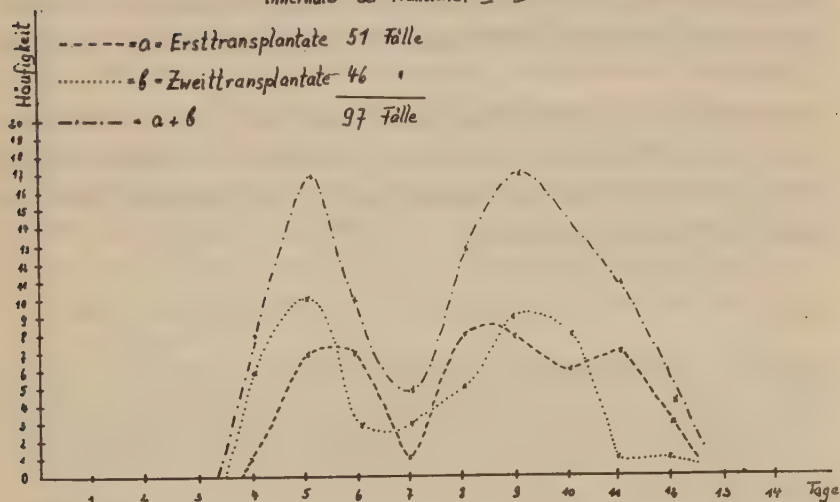
Bei der Zweitverpflanzung liegen die Ergebnisse etwas schlechter. Hier überleben von 46 transplantierten Mäusen 24 Transplantate (= 52 %) länger als 7 Tage. 6 Transplantate (= 13 %) werden am 6. und 7. Tag nach der Transplantation abgestoßen. Sechzehn Transplantate (= 35%)

halten nur 4 bis 5 Tage und liegen somit unterhalb des Mittelwertes der Versuche C 0 und F 0.

Die Verteilung der Abstoßungstage innerhalb aller Fraktionen von C I bis F V zeigt, wie schon erwähnt, wenig Differenz zwischen der Erst- und Zweittransplantation.

### Verteilung aller Abstoßungstage

innerhalb der Fraktionen I - V



Tab. 13: Verteilung aller Abstoßungstage innerhalb der Fraktionen I - V.

Da sich die Abstoßungstage innerhalb der Fraktionen nur wenig unterscheiden und der Unterschied zwischen Erst- und Zweittransplantation ebenfalls sehr gering ist, werden alle Werte in der Kurve zusammengefaßt. Bei 97 transplantierten, vorbehandelten Mäusen zeigt die Verteilungskurve zwei Gipfel. Es überlagern sich hier also zwei Kurven. Der erste Gipfel liegt

bei 5 Tagen, d.h. von 97 Transplantaten werden siebzehn am 5. Tag abgestoßen. Der Tiefpunkt der Überlagerungskurve liegt bei 7 Tagen. Nur 5 Mäuse tolerieren ihr Transplantat 7 Tage lang. Der zweite, breitere Gipfel der Kurve liegt bei 9 Tagen. Dies entspricht auch den Mittelwerten der Fraktionen. Siebzehn Transplantate werden bis zum neunten Tag toleriert.

## 6. Histologie

Nach der Bestimmung des Abstoßungstages werden die Transplantate von den Mäusen in kurzer Narkose herausgeschnitten. Nach der 2. Transplantation werden neben dem Transplantat auch noch Milz und Leber entfernt. Diese Präparate werden in Formalin aufbewahrt. Die Schnitte färbt man mit H. E.

In den Präparaten der Hauttransplantate zeigen sich Anzeichen der Nekrose. So weit das Transplantatbett mit angeschnitten ist, kann Granulationsgewebe erkannt werden. Eine Vaskularisation vom Empfänger zum Transplantat ist nirgends festzustellen.

### Milz:

Die Milz ist makroskopisch vergrößert. Histologisch sind aber keine Merkmale dieser Vergrößerung zu erkennen. Das Verhältnis von roter zu weißer Pulpa ist auch bei den vorbehandelten Mäusen gleich dem der Kontrolltiere.

### Leber:

Auch in der Leber ist keine Proliferation des RES im Vergleich zu den vorbehandelten Mäusen festzustellen.

#### IV. Diskussion

##### 1. Kontrollversuche C 0 und F 0

Die Diskussion der Ergebnisse der Versuche C 0 und F 0 bereitet große Schwierigkeiten. Die im Versuch C 0 auf den Hund transplantierte Mäusohaut wird schon nach 2 bis 3 Tagen vom Hund abgebissen oder abgekratzt, sodaß selbst bei zweimaliger Verpflanzung sicherlich nicht mit einer absoluten Vorbehandlung des Hundes zu rechnen ist. Auch das im Versuch F 0 dem Hund subcutan zugeführte Milzhomogenisat der Mäuse bringt keine besseren Ergebnisse. Die Vorbehandlung ist für eine Heterotransplantation sicherlich als zu gering zu bezeichnen. Der Durchschnittswert der Überlebenszeit der Transplantate vom vorbehandelten Hund auf unbehandelte Mäuse von  $6.2 \pm 1.05$  Tagen deckt sich auch ziemlich genau mit den Werten, die bei EGDAHL (22) zu finden ist. Für die Hautübertragung von unbehandelten Kaninchen auf unbehandelte Ratten erzielt er einen Mittelwert von  $5.9 \pm 2$  Tagen. Bei den Versuchen von unbehandelten Mäusen auf unbehandelte Ratten liegt der Wert bei  $6.0 \pm 2$  Tagen.

Im Parallelversuch zu dieser Arbeit erzielt JÜTTNER (25) bei der Hautübertragung vom unbehandelten Hund auf unbehandelte Mäuse einen Mittelwert von  $6.0 \pm 1$  Tag. Diese für die Ersttransplantation gefundenen Werte unterscheiden sich also nur ganz wenig. Die Zweittransplantation bringt in den Versuchen C 0 und F 0 einen Wert von  $6.0 \pm 1$  Tag. Erstaunlicherweise liegt dieser Wert sehr nahe dem Wert der Ersttransplantation. Ob der Grund dafür doch in der Vorbehandlung des Hundes zu suchen ist, ist fraglich. JÜTTNER kann bei der Zweittransplantation der Tiere einen Mittelwert von  $5.0 \pm 0.8$  Tage erzielen. Hier liegt der Mittelwert des "second-set" also um einen Tag unter dem Mittelwert der Ersttransplantation.

Bei der sehr schwierigen Beurteilung des Abstoßungstages, der Wärme

Farbe und Konsistenz des Transplantates, das als Richtlinie diente, ist es unmöglich, eine gewisse Fehlerbreite auszuschließen. Dazu kommen noch die Probleme der Transplantationstechnik, daß von einer Unterdrückung des "second-set"-Phänomens durch die Vorbereitung des Hundes nicht absolut gesprochen werden kann.

## 2. Begutachtung der Überlebenszeiten innerhalb der Fraktionen der Versuche C und F

Bei der Begutachtung der Überlebenszeiten innerhalb der einzelnen Fraktionen zeigen sich sehr große Streubreiten. Einige Mäuse stoßen ihre Transplantate, trotz massiver Vorbehandlung in der Erst- und Zweittransplantation, schon nach 5 bis 6 Tagen ab (C I 8, C II 4, C III 3, C IV 1, C IV 2, F IV 6). Vielleicht waren diese Mäuse überhaupt nicht sensibilisiert, sodaß sich hier Ergebnisse ähnlich den Kontrollversuchen zeigen. Dabei sind aber Erst- und Zweittransplantation gleich und damit ist kein "second-set"-Phänomen zu erkennen. Nach dem Töten der Mäuse ist aber im Vergleich zu den Kontrollmilzen unbehandelter Mäuse eine wesentlich vergrößerte Milz zu erkennen.



Abb. 12: Links Milz einer erwachsenen, unbehandelten Maus. Rechts Milz einer Maus, die 28 Tage lang mit Homogenisat vorbehandelt wurde.

Bei einer Reihe von Mäusen wird die Ersttransplantation über den Wert der Kontrollversuche C 0 und F 0 hinaus toleriert, die Zweittransplantation hält aber wesentlich kürzer (C I 1, C I 2, C I 7, C II 2, C III 8, C IV 5, C IV 6, F IV 2, F V 4). Auch der umgekehrte Fall, daß die Ersttransplantation nur wenige Tage überlebt, aber bei der Zweitverpflanzung längere Überlebenszeiten zu erzielen sind, kann beobachtet werden (C I 6, F IV 1, F V 8). Die Tatsache, daß der "first-set" länger überlebt, als der "second-set" wäre ja leicht mit der heftigeren und schnelleren Abstoßung der Zweitverpflanzung ähnlich der Reaktion der unbehandelten Mäuse zu erklären. Der umgekehrte Fall jedoch läßt erkennen, daß die Fehlerquelle hier nicht an der Sensibilisierung der Mäuse, also nicht an der Vorbehandlung liegt, sondern an der Transplantations-technik.

Bei den der Anzahl nach viel häufigeren Fällen ist die Ersttransplantation und die Zweitverpflanzung nur gering unterschiedlich und sehr oft gleich. Die größten Unterschiede belaufen sich hier auf 2 Tage. Bei den Mäusen C I 5, C II 1, C II 6, C III 6, C III 7, C IV 4, F V 1 sind in der Überlebenszeit beide Transplantationen gleich. (vgl. Tab. 4 - 9). Die Mäuse C I 3, C I 10, C I 4, C IV 8, C IV 10, C IV 7 und F IV 5 unterscheiden sich in Erst- und Zweittransplantation nur um einen Tag und die Mäuse C I 9, C II 3, C II 8, C III 1, C IV 3, F IV 1, F IV 4, F IV 7 lassen zwei Tage Unterschied erkennen. Auch hieraus kann geschlossen werden, daß sich die Erst- und Zweittransplantation innerhalb der Einzelwerte der Fraktionen, sowie beim Vergleich der Mittelwerte der Fraktionen, nicht nennenswert unterscheidet. Dies wird als ein Erfolg der langen Vorbehandlung der Empfängertiere durch das Spendermilzhomogenisat gewertet. EGDAHL schreibt nichts über eine Zweittransplantation bei vorbehandelten Mäusen. Darüber hinaus ist in der erarbeiteten Literatur keine Arbeit zu finden, mit der dieses Ergebnis verglichen werden könnte. In den Versuchsreihen B D E von JÜTTNER liegen die Ergebnisse ähnlich.

### 3. Zur Transplantationstechnik

Unser Transplantationsverfahren wurde weiter vorne ausführlich beschrieben.

EGDAHL (22) legte an 4 Punkten Einzelnähte und befestigte das Transplantat dann mit einer fortlaufenden Naht. Dazu wurde noch für 3 Tage ein Wundverband gelegt. Auch wir versuchten Transplantationen mit fortlaufenden Nähten, aber der Erfolg war nicht besser als mit 8 bis 10 Einzelnähten. Wir deckten allerdings die transplantierten Hautlappen nicht ab. Die Schwierigkeit der Transplantationen lag in der unterschiedlichen Stärke der Hunde- und der Mäusehaut. Wir bemühten uns, die Mäusehaut immer etwas über die Hundehaut zu ziehen und sie dann mit Einzelnähten zu fixieren. Die relativ große Anzahl der Transplantationsfehler ist darauf zurückzuführen, daß der Rand der Hundehaut zwischen zwei Einzelnähten oft keinen Kontakt zur Mäusehaut finden konnte. Das Transplantat selbst war mit dem Transplantatbett in guter Verbindung. Aber von dem stellenweise freistehenden Rand der Hundehaut aus war immer die Verfärbung und Verhärtung des Transplantates zu beobachten, die sich dann zentralwärts auf das ganze Hautstück ausdehnte. Wahrscheinlich spielten dabei auch die Spannungsverhältnisse zwischen Transplantat und Transplantatbett eine Rolle, die bei zwei so verschieden anatomisch aufgebauten Hautlappen große Schwierigkeiten bereitete. Auch die an der Transplantationswunde entstandenen Entzündungserscheinungen ließen oft keine Einheilung zu. Nach diesen Erfahrungen ist anzunehmen, daß die Methode von GOTTFRIED und PADNOS (23) das geeignetste Verfahren darstellt.

### 4. Diskussion zum Vergleich der Fraktionen

Die Mittelwerte der 5 verschiedenen Fraktionen vorbehandelter Mäuse unterschieden sich nur wenig (vgl. Tab. 4-9). Das gleiche Ergebnis zeig-

te auch die Arbeit von JÜTTNER (25). Auch EGDAHL (22) versuchte bei Rattenembryos "in utero" eine Vorbehandlung mit zwei verschiedenen hohen Milzzelldosen. Die Überlebenstage lagen bei der höheren Dosis sogar ein wenig niedriger. Dies steht im Gegensatz zu den Versuchen ASHLEYS (15) bei Homotransplantationen. Er fand, daß die Überlebenszeiten von Hauthomotransplantaten mit der Quantität und Frequenz der RNS-Injektionen steigen. ASHLEY nimmt an, dass die zugeführte RNS von Ribonukleasen die im Blut, Plasma, Lymphe und innerhalb der Zellen vorhanden sind, schnell zerstört wird. Mit Ansteigen der Quantität und der Häufigkeit der Injektionen würde man erwarten, daß die RNS an Stellen in der Zelle anwächst, wo es den Ribonukleasen relativ unmöglich ist, sie zu zerstören. Während dieser Zeit der hohen Konzentration in der Zelle würde das Transplantat toleriert werden. Des weiteren glaubte er eine Möglichkeit zu sehen, mit höheren Dosen von RNS das RES-System blockieren zu können. Die zweite Möglichkeit hielt er aber für nicht so wahrscheinlich.

Unsere Versuche sind zu diesem Vergleich nicht geeignet. ASHLEY arbeitete an Homotransplantationen und erhöhte die Dosis der zugeführten RNS ständig. Ob diese Ergebnisse direkt auf die Heterotransplantationen angewandt auch gelten, kann nicht beurteilt werden. Auch war durch die Kapazität der zur Verfügung stehenden Kühlzentrifuge bei 30.000 g eine Grenze gesetzt, sodaß sich die Fraktionen nicht so sehr stark voneinander unterschieden.

##### 5. Diskussion der absoluten und signifikanten Verlängerungen

Die Durchschnittswerte der Überlebenszeiten der Transplantate lagen bei den vorbehandelten Mäusen bei 9 Überlebenstagen. Diese Mittelwerte waren im Vergleich zu den Versuchen von JÜTTNER (25), die unbehandelte Hundehaut auf unbehandelte Mäuse verpflanzte (Kontrollversuche) und weiter zu den Versuchen C 0 und F 0 signifikant verschieden. Die Ver-

längerung bei diesen Versuchen betrug also etwas mehr als 50 Prozent. Damit wurde eine Toleranz und Verlängerung erzielt.

EGDAHL (17) und (22) erzielte bei seinen Versuchen der Hautverpflanzung von Kaninchen auf Ratten je nach der verabreichten Dosis von Milzzellen Überlebenszeiten von 11, 13, 14 und 17 Tagen. Bei seinen Versuchen der Transplantation von Mäusen auf Ratten sogar 16 und 19 Tage. Diese Werte wurden allerdings unter völlig unterschiedlichen Versuchsbedingungen erzielt. EGDAHL behandelte Rattenembryos "in utero" mit Milzzellen der Wirte vor. Abgesehen von den großen Verlusten durch die Vorbehandlung - die fetale Mortalität lag bei 60 bis 80% - bauten seine Versuche auf der Erzielung einer Toleranz bei Embryos auf. Diese Embryos, die noch unfähig sind, Fremdanlagen zu erkennen und damit auch keine Antikörper bilden, müßten in ihrem späteren Erwachsenenleben spezifisch Haut der milzspendenden Tiere tolerieren.

ZAALBERG (16) konnte bei seinen Versuchen von Hautverpflanzungen zwischen Ratten und Mäusen in 10 Fällen sogar Verlängerungen zwischen 58 und 108 Tagen erzielen. Er bestrahlte Mäuse mit einer tödlichen Totalkörperbestrahlung und verabreichte anschließend Rattenknochenmark. Im Anschluß daran verpflanzte der Haut der knochenmarkspendenden Ratten auf die behandelten Mäuse. Seine sehr langen Verlängerungen erzielte er bei Tieren, bei denen er nachweisen konnte, daß alle Erythrozyten und Granulozyten in den Mäusen Rattenursprung hatten.

REILLY und WOODRUFF (19) lehnten die Vorbehandlung der Empfängertiere durch intrauterine Injektionen oder letale Bestrahlung ebenfalls ab. Sie verwendeten erwachsene Ratten als Spender für Knochenmark und Haut. Neugeborene Mäuse, innerhalb der ersten 12 Stunden nach der Geburt, wurden mit nichtletalen Bestrahlungen von 200 r oder intravenösem Rattenknochenmark und intraperitonealen Injektionen der gleichen Zellzahlen behandelt. Die Methoden wurden auch kombiniert. Nach 6

Wochen transplantierten sie Rattenhaut auf Mäuse. Es wurden hier Hautspaltlappen verwendet. Die Durchschnittswerte der Überlebenszeiten der Hauttransplantate lagen je nach dem einzelnen Fallversuch, zwischen 9 und 18 Tagen. Die Mehrzahl der Durchschnittswerte lag zwischen 9 und 10 Tagen. Es starben auch hier 40 % der Mäuse bei den kombiniert angewandten Vorbehandlungen.

Es ist für uns sehr schwierig, die Ergebnisse dieser Arbeiten mit den von uns gefundenen Werten zu vergleichen. Die Arbeitsmethoden sind zu unterschiedlich. Auch wurden von allen Forschern bei Heterotransplantationen Tiere verwendet, deren Abwehrsystem noch nicht ausgebildet war. Entweder wurden schon Embryos noch intrauterin oder Neugeborene wenige Stunden nach der Geburt vorbehandelt. Wir verwendeten bewußt erwachsene Mäuse, um die Wirkung von subzellulären Fraktionen auf einen immunologisch abwehrbereiten Organismus zu zeigen.

Auch in der Vorbehandlung der Empfängertiere zeigen sich große Unterschiede der Bearbeitung. Während ZAALBERG und Mitarbeiter und REILLY und WOODRUFF zum Teil mit tödlichen oder nicht letalen Strahlen arbeiteten, und zusätzlich Knochenmarkszellen i. v. injizierten, wollten wir eine Sensibilisierung der Empfängertiere durch Vorbehandlung mit subzellulären Fraktionen erreichen. EGDAHL et al. arbeiteten mit Milzzellfraktionen, die in der Wirkung unseren subzellulären Milzfraktionen ähnlich sind. Die Ergebnisse dieser erwähnten Arbeiten sind wohl besser als unsere Überlebenszeiten, allerdings beruhen diese Werte einmal auf anderen Arbeitsmethoden und zum zweiten wurden immer Embryos oder neugeborene Tiere zur Vorbehandlung gewählt.

Bei der Vorbehandlung unserer Empfängertiere traten keinerlei Ausfallerscheinungen ein. Die intraperitonealen Injektionen wurden von den erwachsenen Mäusen sehr gut vertragen. In den Versuchen C und F überlebten alle behandelten Tiere. Es war kein "runt-disease" zu erkennen.

Nicht einmal eine Wachstumsstörung gegenüber den nicht behandelten Tieren wurde bemerkt. Die Mortalität in den diskutierten anderen Versuchen lag dagegen sehr hoch. EGDAHL hatte bei seinen Versuchen eine fetale Mortalität von 60 - 80 %. REILLY und WODDRUFF verloren bei ihren signifikant verschiedenen Versuchen bis zu 40 Prozent der behandelten Tiere. Auch ZAALBERG et al. sprachen von großen Verlusten durch die tödliche Totalkörperbestrahlung. Aus diesen Gründen erschien uns unsere Methode schonender und für weitere Arbeiten geeigneter zu sein, auch wenn die Ergebnisse noch nicht so gut ausfielen.

Es ist bei unseren Durchschnittswerten schwierig, von absoluten Verlängerungen zu sprechen. Ein Unterschied zu den unbehandelt verpflanzten Tieren ist deutlich sichtbar. Allerdings ist die Streubreite in unseren Versuchen sehr groß. Wir glauben aber, daß durch eine verbesserte Transplantationstechnik und mit intensiver vorbereiteten Fraktionen aus Milzgewebe bessere Ergebnisse zu erzielen sind.

MANNICK und EGDAHL (24) zeigen in dieser Arbeit, daß eine Vorbehandlung mit besonderen RNS-Fraktionen geeignet für weitere Versuche wäre. ASHLEY (15) und AXELROD (14) haben bei Homotransplantationen diesen Weg beschritten. MANNICK und EGDAHL diskutieren die Fähigkeit gewisser fremder Nukleinsäuren, die die metabolische Aktivität von Säugetierzellen verändern können. Eine Erklärung für diesen Effekt ist die "messenger" RNS. Sie ist ein spezielles RNS-Molekül, in der die Sequenz der Purin- und Pyrimidinbasen den "code" trägt, der verantwortlich ist, für die Zellproteinsynthese. Die Frage ist nun, ob fremde "incorporated RNA" die vermutlich "messenger RNA" enthält, der Grund einer spezifischen Änderung im Zellmetabolismus, zum Teil der Zellproteinsynthese ist. Vielleicht zeigt sich ein Weg durch Verabreichung großer Mengen von RNS zusammen mit einem Ribonukleasehemmer.

## V. Zusammenfassung

Es wurde versucht, Haut von Bastardhunden auf einen reinerbigen Stamm weißer Mäuse zu verpflanzen. Dazu wurde erst der Hund durch Verpflanzung von Mäusefellen oder durch Injektionen von homogenisierten Mäusmilzen vorbereitet und danach die Milz des Hundes entfernt, zerkleinert, homogenisiert und fraktioniert zentrifugiert. Mit diesen Homogenisaten wurden die weißen Mäuse 28 Tage lang vorbehandelt und im Anschluß daran die Haut des Hundes zweimal auf weiße Mäuse dieses Stammes übertragen.

Während die Übertragung der Haut des vorbehandelten Hundes auf unbehandelte Mäuse im Verhältnis zu den Leerversuchen von JÜTTNER (25) keine wesentlichen signifikanten Unterschiede zeigte, konnte man bei der Transplantation von unbehandelter Hundehaut auf vorbehandelte Mäuse doch eine gerade signifikante Verlängerung erkennen. Die verschieden hoch zentrifugierten Fraktionen des Milzhomogenisats, die den Mäusen verabreicht wurden, ließen keine eindeutigen Unterschiede bezüglich der Überlebenszeit erkennen. Klar zeigte sich aber, daß durch die lange Vorbehandlung kein "second set"-Phänomen einsetzte. Die Erst- und Zweittransplantation unterschied sich kaum, man kann sagen, sie wurde gleich lang toleriert.

## VI. Literaturverzeichnis

1. MEDAWAR, P.B. Immunology of transplantation.  
Harvey Lect. 52: 144-176 (1956/57)
2. RUSSEL, P. and MONACO A. The Biology of Tissue Transplantation.  
New England J. Med. 271: 502-510, 553-562, 610-615, 664-671, 718-725, 776-783
3. SCHEIFFARTH, F. Die Transplantationsimmunität.  
Med. Welt, 8. Sept. 1962 (Sonderdruck)
4. ANDRE, J.A. und SCHWATZ R.S. The morphologic responses of lymphoid system to homografts.  
Blood 19: 313-333 (1962)
5. EGDAHL, R., ROLLER, F. Aquired Tolerance to homografts and hetero-  
SWANSON, R. and VARCO, R. grafts in the rat.  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 73: 842-847
6. GEMÄHLICH Ein neues Prinzip zur Verlängerung der Überlebensdauer von Haut-Homoiotransplantaten.  
Bruns Beitr. klin. Chir. 210: 245-251 (1965)
7. KASPAR u. BÜCHERL Erfolgreiche Homotransplantation von Haut bei jungen Ratten.  
Bruns Beitr. klin. Chir. 209: 1-9 (1964)
8. BILLINGHAM, BRENT, EVANS u. STEINMÜLLER zit. nach KASPAR u. BÜCHERL
9. BILLINGHAM, BRENT and MEDAWAR Actively aquired toleranz of foreign cells.  
Nature (London) 172: 603-606 (1953)
10. BILLINGHAM, BRENT and MEDAWAR Aquired tolerance of the skin homografts.  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 59: 409-416 (1955)
11. MARTINEZ, C. et al. Production of immunologic tolerance in mice after repeated injections of disrupted spleen cells.  
J. Exp. Med. 118: 743-758 (1963)

12. HOWARD, R. J., GORDON, J. M. and MARTINEZ, C. Induction of tolerance in adult mice with spleen fractions.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115: 980-982 (1964)
13. ASHLEY, et al. The effects of nucleic acids on homograft tolerance.  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 87: 429-439 (1960)
14. AXELROD, et al. Effect of ribonucleic acid extracts upon viability of skin homografts in the rat.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 108: 549 (1961)
15. ASHLEY, et al. Further studies in the survival of skin homografts as a function of quantity and frequency of RNA injections.  
Amer. J. Surg. 105: 174-176 (1963)
16. ZAALBERG, VOS and BEKKUM Surviving rat skin grafts in mice.  
Nature 180: 238-239 (1957)
17. EGDAHL, et al. Acquired tolerance to homografts and heterografts in the rat.  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 73: 842-847
18. KENNETH and MATSURA Prolonged survival of fetal tissue heteroplasms.  
Plast. Reconstr. Surg. 35: 327 (1965)
19. REILLY, R. and WOOD-RUFF, M. Induction of tolerance of rat skin in new born mice.  
Trans. Bull. 28: 137-139 (1961)
20. MONACO, MARY, WOOD and RUSSEL A simple method for the preparation of cell free transplantations antigens.  
Surg. Forum 15: 133-135 (1964)
21. GEORG, H. Untersuchungen über die Bedeutung der Flächenspannung bei der freien autoplastischen Vollhauttransplantation.  
Langenbecks Arch. klin. Chir. 311: 356-380
22. EGDAHL, et al. Studies in homograft and heterograft survival.  
Surgery 41: 228-239 (1957)
23. GOTTFRIED, B. and PADNOS, M. A simple rapid method for skin grafting in mice.  
Trans. Bull. 23: 427-429

24. MANNICK and EGDAHL

Inhibition of transplantation immunity by RNA.

Disease of the chest 46 (1964)

25. JÜTTNER, G.

Induktion der Transplantattoleranz der Behandlung mit subzellulären Antigenfraktionen.

Inaug.-Diss. Erlangen 1968

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. G Hegemann, Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen, für die Übernahme des Korreferates danken. Insbesondere gilt mein Dank Herrn Privatdozent Dr. H. Bunte, Oberarzt der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen, für die Überlassung des Themas, für seinen wertvollen Rat und seine stete Hilfsbereitschaft während der Durchführung der Arbeit.



## Lebenslauf

Am 17. April 1939 wurde ich, Dieter Hitz als Sohn des Elektromeisters Willi Hitz und seiner Ehefrau Margarete Hitz, geb. Stöbel, in Fürth/Bay. geboren.

Von 1945 bis 1949 besuchte ich die Volksschule in Vach bei Fürth und trat im September 1949 in die Oberrealschule Fürth ein, die ich 1955 mit der mittleren Reife abschloß. Im September 1955 begann ich eine kaufmännische Lehre als Textilverkäufer bei der Firma Overbeck in Nürnberg, die ich im Februar 1958 mit der Kaufmannsgehilfenprüfung für Einzelhandel beendete.

Im November 1958 entschloß ich mich, wieder in die Oberrealschule Fürth zurückzukehren und legte im Juli 1961 die Reifeprüfung ab.

An der Universität Erlangen-Nürnberg wurde ich im November 1961 für die Fachrichtung Medizin immatrikuliert. Im August 1964 unterwarf ich mich der ärztlichen Vorprüfung und beendete mein Studium im Februar 1968 mit dem medizinischen Staatsexamen.

**Offsetdruck-Fotodruck**

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990





## **Offsetdruck-Fotodruck**

---

**J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990**

---